

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 63-287497

(43)Date of publication of application : 24.11.1988

(51)Int.Cl.

C12P 21/02

(21)Application number : 62-124408

(71)Applicant : NIPPON SEIFUN KK

(22)Date of filing : 21.05.1987

(72)Inventor : IWAMOTO MASAYA  
UCHINO KEIJIRO  
MATSUO TOSHIHARU  
SOTOZAKI YASUHIRO

## (54) PRODUCTION OF GLUTATHIONE-CONTAINING EMBRYO BUD EXTRACT

## (57)Abstract:

PURPOSE: To produce a glutathione-containing embryo bud extract, by adding an yeast and water to embryo buds, fermenting the yeast and directly separating a liquid from a solid or heating the fermentation product and separating the liquid.

CONSTITUTION: A baker's yeast, etc., in an amount of 0.1W10% based on raw material embryo buds is added to an aqueous suspension of grain or bean embryo buds to extract glutathione (GSH) or other active ingredients under condition of about 30° C. The yeast is simultaneously fermented to reduce the sugar content in the extract solution. Residues are separated from the culture fluid after completing the extraction.fermentation steps and the extract solution is then heat-treated at 50W200° C, preferably 80W100° C for 1W60min, preferably 5W20min and then separated into the solid phase and liquid phase. The solid phase, such as thermally denatured proteins, is removed and the extract solution separated from the solid phase is concentrated to afford a GSH-containing embryo bud extract. The GSH-containing extract is also obtained by directly concentrating an extract solution after separating residues without passing through the heat treatment.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

BEST AVAILABLE COPY

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-287497

⑪ Int. Cl.<sup>4</sup>  
C 12 P 21/02

識別記号 庁内整理番号  
G-6712-4B

⑬ 公開 昭和63年(1988)11月24日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全7頁)

⑭ 発明の名称 グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法

⑮ 特 願 昭62-124408

⑯ 出 願 昭62(1987)5月21日

⑰ 発 明 者	岩 本 昌 也	東京都町田市本町田3549-10 藤の台団地2-20-104
⑰ 発 明 者	内 野 敬 二 郎	神奈川県愛甲郡愛川町中津5894
⑰ 発 明 者	松 尾 俊 治	神奈川県横浜市旭区鶴ヶ峰本町1003 鶴ヶ峰陸寮
⑰ 発 明 者	外 崎 康 宏	神奈川県相模原市大沼3218-56
⑰ 出 願 人	日本製粉株式会社	東京都渋谷区千駄ヶ谷5丁目27番5号
⑰ 代 理 人	弁理士 中 村 稔	外2名

明 細 書

1. 発明の名称 グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法

2. 特許請求の範囲

- (1) 胚芽に酵母と水を加えて発酵させた後、固一液分離することを特徴とする、グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法。
- (2) 胚芽に酵母と水を加えて発酵させ、加熱処理した後固一液分離することを特徴とする、グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、グルタチオン(以下GSHという)含有胚芽抽出物の製造法に関する。

(従来の技術)

GSHは、生体内の酸化還元系に関与し、種々の酵素の補酵素として、生化学、医学分野などにおいて重要な役割りを果しているペプチドである。

またGSHは哺乳動物の臓器あるいは酵母などの微生物に多く含まれている。しかし哺乳動物の臓器は供給に制約があって工業規模での生産原料としては適していない。

一方酵母などの微生物は任意の量の固体が得られ、更に培養操作で固体内のGSH含量を高めることが出来るなど有利な点が多いことから、GSH工業生産の原料として一般に利用されている。

しかしながら、工業廃水による公害が問題となっているおりに、大量の培養廃液を伴う発酵工業においては、廃液処理が大きな負担となっている。

ため、酵母利用は必ずしも有利な方法とは言えなくなっている。また酵母を主原料としたGSHに富む食品もあるが、酵母特有の異臭や味はさげられないところである。

〔発明が解決しようとする問題点〕

そこで本発明者らは、GSH含量が高く、容易に入手でき、價格的にも有利な胚芽を利用し、従来満足し得る操作及び収量で抽出することが不可能であったGSH含有物を色沢、風味良好な状態で工業的に有利に抽出し得る方法を研究した。

従来一般的な胚芽成分の抽出法としては、次の1)~4)の方法が知られていた。

- 1) 穀類胚芽を澱粉加水分解酵素の存在下70℃以上の温度で熱水抽出する方法。(特公昭55-1027号公報)
- 2) 加水分解した穀類胚芽に先ずプロテアーゼと糖製複合酵素を作用させ、次いでその処理物にα-アミラーゼを作用させて抽出する方法。(特開昭48-1170号公報)
- 3) 玄米の胚芽を95℃の温水で抽出する方法。

(特開昭51-141899号公報)、がある。しかしこの方法で用いるpH2~3という強酸性下では、GSH以外の各種有効成分の損失を生じ、またその後の濃縮や乾燥等の処理を行う上でも種々の不都合を生じる。

そこで本発明の目的は、胚芽からGSH含有抽出物を得る方法に於て、簡便な抽出操作により、抽出液が着色することなく、各種有効成分及びGSHの損失が少く風味の良好な胚芽抽出物の溶液並びに乾燥品を製造する方法を提供することにある。

〔問題点を解決するための手段〕

本発明の第1の態様は、胚芽に酵母と水を加えて発酵させた後、固-液分離することとを特徴とする、グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法である。

本発明の第2の態様は、胚芽に酵母と水を加えて発酵させ、加熱処理した後固-液分離することとを特徴とする、グルタチオン含有胚芽抽出物の製造法である。

以下、本発明を更に詳細に説明する。

(特開昭56-48875号公報)

- 4) 穀類胚芽を加水し、70~95℃でα-アミラーゼ、次いで45~55℃でプロテアーゼを作用させ、さらに加熱した後固-液分離する方法。(特開昭60-149351号公報)

しかし上記の1)~4)の方法で胚芽の水抽出を行う場合、

- i) GSHの抽出効率が著しく悪い、
- ii) 抽出液の固-液分離が困難である、
- iii) 実用性のある濾過操作が困難である、
- iv) 抽出液の経時的褐変や加熱乾燥による褐変が著しい、

等の問題点があり、化学的に不安定なGSHを効率よく得ることができなかった。

またGSHを胚芽から効率よく得ることを目的とした抽出方法としては、

- 5) 胚芽からグルタチオンを水抽出するにあたり、pH6~8の条件下で抽出を行い抽出後はpH2~3の条件下にあるよう、pH調整することとを特徴とする胚芽からのグルタチオン含有液の製法

## I. 原 料

### i) 胚 芽

本発明に用いる胚芽とは穀類胚芽又は豆類胚芽であり、具体的には米、小麦、大麦、えん麦、はと麦、ライ麦、トウモロコシ、そば、あわ、きび、ひえ、もち、大豆、あずき、いんげん豆、えんどう、ささげ、そら豆、等の胚芽を含む。これらの胚芽を原料として使用する際、その形態に特別な制約はなく、胚芽そのまま、粉末、粗砕物、圧搾物その他いかなる形態のものも使用することができる。

### ii) 酵 母

本発明に用いる酵母とは、糖を分解してアルコール発酵を行うものであり、市販品として容易に入手することができる。種類としては清酒酵母、アルコール酵母、ビール酵母、ぶどう酒酵母、パン酵母等が含まれる。形態としては生菌、乾燥品、圧搾品等いずれの形態でも使用することができる。

## II. 抽出・発酵処理

本発明に於ては、まず酵母を胚芽の水懸濁液に添加して、約30℃の条件下でGSHその他の有効成分を抽出すると同時に酵母を発酵させて抽出液中の糖含量を減少させる。この工程に於ける反応条件及び効果は次の通りである。

### i) 酵母の添加量

酵母の添加量は、使用する酵母の性質、性状、発酵力面により異なり、また原料胚芽の性状、品質によっても異なるが、多くの場合原料胚芽に対して0.1～10重量%で十分である。ただし、あまり多量に用いると、反応系に固体が分散し、後工程で固-液分離しても、透明な抽出液を得にくくなることもある。

### ii) 酵母の添加時期

酵母は、培養液を固-液分離する以前の反応系に任意の時期に添加することができる。すなわち抽出処理の開始前、抽出処理中のいずれの段階で添加してもよく、反応系を約30℃に加熱する前でも後でもよい。また水に胚芽を懸濁させた後に

酵母を添加するのが通常の処理法であるが、胚芽より先に酵母を添加してもよいし、胚芽と酵母の混合物を水に添加してもよい。

### iii) 抽出・発酵温度

抽出・発酵温度は、酵母の性質、性状、発酵力により、また原料胚芽の性状、品質によっても異なるが、一般には30℃前後が好ましい。また最近のバイオ技術により低温下でも発酵する酵母などを用いた場合はGSHの抽出効率との関係でさらに低温や高温で実施することができる。抽出温度は、室温から30℃前後まで変化させながら行なうこともできるし、ほぼ一定温度で行なうこともできる。

### iv) その他の条件

抽出水の量には特別な制約はなく、例えば原料胚芽1重量部に対して2～10重量部程度の量で十分である。

抽出・発酵槽の形式、温度調整方式などは自由に設計可能である。

抽出・発酵に際しては攪拌を利用することがで

き、温度調整は、直火、電熱器、或いはなげこみパイプヒーターやスチームング等によって行なうことができる。

抽出・発酵時間は通常1～8時間程度で十分である。抽出条件、発酵条件に応じて適当に調整することができる。

### v) 効果

抽出・発酵工程に於ては、酵母が培養液中に二酸化炭素を発生させるため、培養液のpHはGSHにとって安定な酸性領域(pH約4～5.5)となる。

また発酵により培養液中の糖含量を減少させることができるため、メイラード反応等による抽出液の褐変を防止することができる。更に後工程の抽出液の濃縮・乾燥処理等に於ても褐変を防止することができる。特に乾燥処理に於ては、糖含量が多いと抽出液が水あめ状を呈し、乾燥不能となるが、糖含量を減少させることにより粉末化が容易となる。

## III. 加熱処理

以上のように抽出・発酵工程を終えた培養液を、

短時間高温で加熱処理することにより、固-液分離が容易となり、タンパクを熱凝固させて除去することができる。同時にこの加熱処理によって殺菌を行うと共に培養液中に存在するGSH分解酵素を失活させ、GSHの損失を防ぐことができる。この際の加熱時間は1～60分間が好ましく、5～20分間が特に好ましい。また加熱温度は50～200℃が好ましく、80～100℃が特に好ましい。

加熱方法は、直火、電熱器、あるいはなげこみパイプヒーターやスチームング等によって行なうことができる。

ここで抽出・発酵工程を終えた培養液に対して直接加熱処理を行ってもよいが、抽出残渣を有効に利用するためには、一旦、残渣を分離した後抽出液を加熱処理することが好ましい。特に抽出残渣には抽脂やビタミンEの大部分が保持されているため、これらの原料として、また食品素材としても利用できる。

## IV. 固-液分離

こうして加熱処理を終えた抽出液を、次いで固相と液相に分離し、加熱変位したタンパク等の固相成分を除去する。

分離に際しては、水のみによる従来法と異なり、容易に液相と固相が分離できるので、従来公知の液-固相分離に用いるどのような手段を採用しても差支えない。例えば沈降法、濾過法や遠心分離法を用いることができるし、これらを併用することもできる。遠心分離法としては連続型遠心分離機を用いることが好ましい。また沈降法や濾過法を用いるに際しては、望むならば、有機もしくは無機の沈降剤を利用して固-液分離、濾過を一層容易にすることもでき、例えば濾過助剤、硅藻土、白土、ポリアクリル酸ソーダなどの如き濾過助剤、沈降剤が利用できる。

## V. 濃縮・乾燥

上記の製法により加熱処理工程を経るか又は経ないで固相から分離された抽出液は、そのまま、あるいは、可及的熱変性を受けにくい公知の濃縮手段で

濃縮して用いることができる。

更に同様に熱変性をうけにくい公知の乾燥手段で粉末化することができる。粉末化に際し、望むならば各種助剤を用いることができる。

工業的には抽出液をロータリエバポレーター、遠心式薄膜真空蒸留装置、連続式真空乾燥機、凍結乾燥機さらにはスプレードライヤーなどの一般的方法により濃縮、乾燥し、粉末化することができる。

以上の本発明の製造工程全体を通じて、GSHは光、酸化、熱などに不安定であるため、工程中可能なかぎり遮光、冷却しさらには酸化防止剤を加えて製造することが好ましい。

## VI. グルタチオン含有胚芽抽出物の使用方法

以上のようにして得られたグルタチオン含有胚芽抽出物は、液状又は乾燥品として食品、飲料、嗜好品、保健薬、医薬を包含する広い分野の用途に有用な多様かつ豊富な有用成分を含有している。

例えば、飲食品として、水、湯、サイダー、牛乳その他に配合して飲用に供することができ、更

にチュウインガムベース、パン類、和洋菓子類、飲料品、ドリンクス剤類、冷菓子、乳製品、練製品、トウフ、発酵食品、麺類などに保健、栄養増強剤として添加して、飲食用に供することができる。更に、保健、栄養剤としてそのまま利用できる。

特に乾燥品については、顆粒状、ペレット、コーティング錠、カプセル等の種々の剤型にすることもできる。

更に、本発明方法で得られるグルタチオン含有胚芽抽出物は、必要に応じて各種の酸化防止剤、保存料、調味料、香料等を適当に配合して用いることもできる。

また、本発明の方法において生成する抽出残渣の乾燥物は、風味、色彩が良好であり、ビタミンEにも富むので、健康食品用素材として好ましいものであるほか、ペット・フードその他飼料用栄養剤としても適している。

## 〔発明の効果〕

本発明の製造方法及びそれによるグルタチオン

含有胚芽抽出物は、従来の技術に比べて以下の利点を有する。

- 従来の酵母から抽出したGSH含有酵母食品に比べて良好な風味がある。
- 従来胚芽の水溶性成分については抽出効率が著しく悪く、2~3% (乾燥物換算) 程度の歩留りしかなかったが、本発明の方法によれば15~20%の水溶性成分を抽出することができる。またGSHの損失が少ないため、抽出物中のGSH濃度が高く、乾燥品として100g中にGSHが322mg以上含有されたものを得ることができる。
- 固-液分離が容易であるため、工業的規模の分離機、例えばディスクタイプ、スクリュードカンタータイプ等の連続型分離機を使用して分離することが容易である。
- 実用性のある濾過操作が容易である。
- 発酵により糖含量が減少するため、培養液や抽出物の経時的褐変や加熱乾燥による褐変がなく、容易に粉末とすることができる。

- f) GSH以外の有効成分についても損失が少い。  
g) 抽出物からタンパクが除却されるので、水溶性となり、ジュース等の飲料に溶解することができる。

## 〔実施例〕

以下実施例により本発明を更に具体的に説明する。本明細書中特に記載のない限り%は重量%を表す。

尚、以下の実施例全般を通じて、GSH含量の測定は高速液体クロマトグラフィーにて行なった。条件は次のとおりである。

カラム：Finepak SIL C<sub>18</sub>S (日本分光工業製)

移動相：A→0.5 Mリン酸バッファー (pH 3.0)

B→1 Mリン酸バッファー (pH 3.0)

：メチルアルコール=1：1

A：B=75：25

検出器：紫外分光検出器 (日本分光工業製)

330 nm

## 実施例 1

小麦胚芽 (日本製粉製：商品名 A胚芽)

第 1 表

	重 量 (g)	乾燥重量 (g)	回収率 (%)
小麦胚芽	600	515.4	100
抽出物粉末	91.7	80.6	16
抽出残渣	312.9	305.1	59

\* 乾燥重量：135℃、30分乾燥

上記抽出物粉末の成分を分析したデータを第2表に示す。

第 2 表

項 目	分 析 値
GSH	0.322%
水 分	12.1%
粗脂肪	0.9%
灰 分	9.62%
蛋 白	37.9%
ビタミンB <sub>6</sub>	0.00452%

600gと、パン酵母 (三共製：商品名 三共イースト) 15gを30℃の水3ℓに添加して懸濁し、温度を30℃に保持したまま4時間軽く振盪させながら発酵させた。この培養液を11,000Gにて遠心分離し、得られた沈殿物を135℃にて3時間乾燥させた。

遠心分離で得られた上清を沸騰水浴中で5分間加熱処理した後、生成した白色沈殿物は11,000Gにて遠心分離した。この上清を凍結真空乾燥機にて処理し、91.7gの粉末を得た。この粉末のGSH含量は322mg/100gであった。またこの粉末を水に溶解して、透明な水溶液を得ることができた。上記の上清、粉末及び水溶液には、いずれも異臭味がなかった。

以上の収量及び収率を第1表に示す。

## 実施例 2

工程1：小麦胚芽 (日本製粉製：商品名 A胚芽) 10kg、パン酵母 (三共製：商品名 三共イースト) 250gを100ℓタンク中で、あらかじめ30℃に加温しておいた水50kgに懸濁させた。次いでこれを攪拌モーターにてかるく攪拌しながら、33～35℃の恒温室にて4時間発酵させた。

工程2：発酵後スクリーデカンターにて1時間あたり300kgの送液量で固液分離した。固型分 (残渣1) は湿重量で12.5kg、分離液 (抽出液1) は、49.2kg得た。

工程3：分離液はパイプ式投込みヒーターにて15分間かけて90℃に加熱した。このまま5分放置後、パイプ式投込み冷却器にて10分間かけて30℃まで冷却した。

工程4：加熱処理液は、連続型遠心分離機にて1時間あたり200～500kgで送液し、

固一液分離した。抽出液（抽出液2）は、40 kg、固型分（残渣2）は微量回収した。

工程5：このようにして得た分離液は、うすい黄褐色透明で、風味も良好であった。分離液は遠心式薄膜真空蒸留装置にて品温40℃で、1時間あたり80～100 kgの送液量で、約4 kgまで濃縮し、さらにベルト式連続真空乾燥装置にて粉末としたところ1.8 kgの粉末が得られた。この粉末のGSH含量は269 mg/100 gであった。

次の第3表には実施例2の工程2で採取した抽出液1を室温で放置した場合の経時的变化を示す。比較例1として用いた水抽出液は、実施例2の工程1と同一の操作によって、ただしパン酵母を添加せずに抽出し、工程2に於て抽出液1と同様にして得たものである。

第 4 表

	小麦胚芽	残渣1
水分	14.1%	2.5%
粗脂肪	10.6%	17.2%
酸価*	10.9	6.9
過氧化物価**	0	0
ビタミンE	0.0336%	0.0399%
灰分	4.11%	4.99%
蛋白質	29.9%	38.7%
ビタミンB <sub>1</sub>	0.00126%	0.00069%
GSH	0.093%	0.009%

\* 1 脂肪1 g中に含有する遊離脂肪酸を中和するに要するKOHのmg数。

\* 2 脂肪1 kg中の過酸化物の酸素をミリ当量で示したもの。

#### 実施例3

実施例2の工程1と同様の操作で小麦胚芽とパン酵母を発酵させた。但し発酵時間を8時間とし、1時間毎に発酵液をサンプリングし、糖含量及び

表

抽出液	実施例2の抽出液1	比較例1の水抽出液
1時間後	無色pH 6.5～7.0	無色pH 6.5～7.0
2時間後	無色	少し黄褐色
3時間後	無色	黄緑色
4時間後	無色pH 4～5.5	かなり黄緑褐色 pH 6.5～7.0

次の第4表には、実施例2の工程2で回収した残渣1を135℃で3時間乾燥したものの成分と小麦胚芽の成分を示す。

GSH含量を調べた。糖含量はサンプリングした発酵液を試料としてフェノール硫酸法にて測定し、シュクロース量に換算した。GSH含量は、サンプリングした発酵液を、次いで遠心分離した後凍結乾燥し、測定した。結果を第1図に示す。

#### 実施例4

実施例1と同様に処理し、ただし遠心分離によって得られた上清を加熱処理することなく凍結乾燥機で処理して126.0 gの粉末を得た。この粉末のGSH含量は279 mg/100 gであった。上記の上清、粉末にはいずれも異臭味がなかった。

#### 実施例5

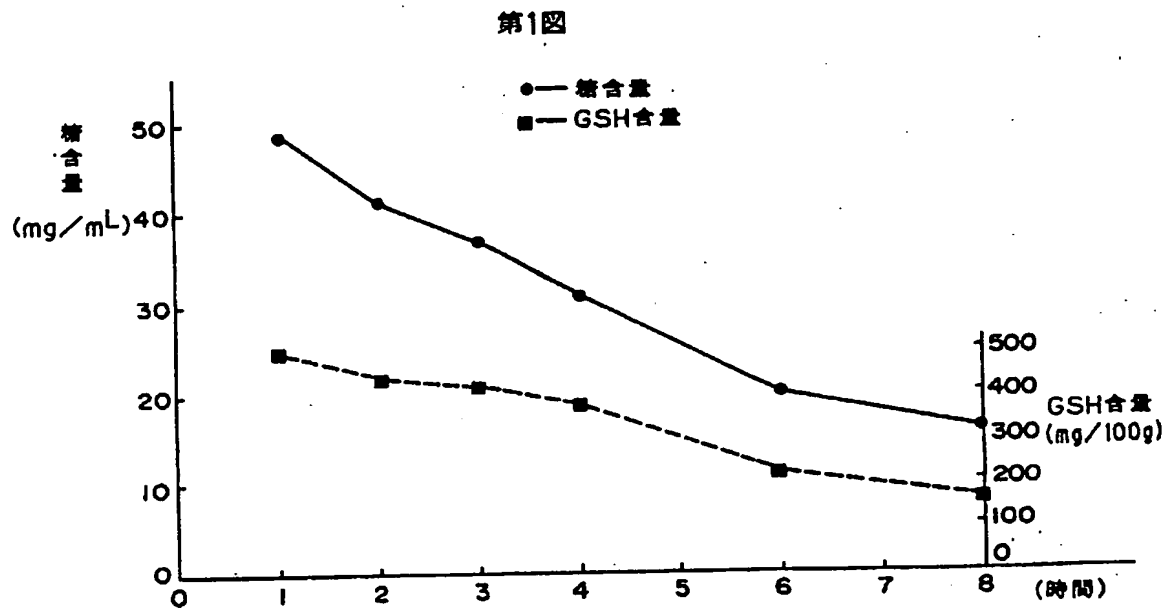
実施例2の工程1及び2と同様の処理を行い、工程2の分離液（抽出液1）を得た。このようにして得た分離液はうすい黄褐色で、風味も良好であった。分離液は遠心式薄膜真空蒸留装置にて品温40℃で、1時間あたり80～100 kgの送液量で、約5.5 kgまで濃縮し、さらにベルト式連続真空乾燥装置にて粉末としたところ2.5 kgの粉末が得られた。この粉末のGSH含量は250 mg/



100gであった。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は小麦胚芽とパン酵母の水懸濁液を8時間発酵させ、1時間毎の糖含量とGSH含量を測定した結果を示す。



NO PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**